

## EFFECTO DE LA COPULACIÓN DURANTE EL CELO POST- OVULATORIO EN LA MORTALIDAD EMBRIONARIA EN ALPACAS

María Aparicio M.<sup>1</sup>, Víctor Leyva V.<sup>2</sup>, César Novoa M.<sup>3</sup>† y Wilber García V.<sup>4</sup>

### ABSTRACT

The objective of this research work was to study the effect of the frequency of copulation during the post-ovulatory estrous on the embryonic mortality in alpacas. Forty four female alpacas were selected having a post-partum sexual rest >20 days and bearing in the ovaries a pre-ovulatory follicle  $\geq 7$  mm of diameter. Animals were mated (time of coitus:  $\geq 15$  minutes) using a male with proven fertility and received 6 mg of buserelina i.m. after copula to ensure ovulation. Three experimental groups were then randomly organized: the first group ( $S_1$ , n = 14) did not receive additional matings, the second group ( $S_2$ , n = 15) received an additional mating on day three post-ovulation, and the third group ( $S_3$ , n = 15) received additional matings on days three and four post-ovulation. Ovulation was confirmed through ultrasound images by disappearance of the pre-ovulatory follicle 42 hours post-mating and the presence of a corpus luteum on day 5 post-ovulation. In addition, the size of the corpus luteum, morphological changes of the uterine horns and presence of an embryo were recorded on days 13-14 and 19 post-mating. These observations were complemented with the observation of sexual receptivity using a male on days 6, 13-14, 19 and 26 post-mating. Ovulation rate was 91%. There was a higher tendency on embryo survival at day 19 post-mating in those alpacas that received an additional mating on days 3 ( $S_2 = 80\%$ ) and 3 and 4 ( $S_3 = 85\%$ ) post-ovulation than in those animals without additional mating ( $S_1 = 75\%$ ). An additional study in four induced-ovulated alpacas was done to detect fertilized ova at days 2, 3 and 4 post-ovulation. Recovery of the fertilized ova from oviduct was possible only until day 3 post-ovulation.

**Key words:** alpaca, embryonic mortality, post-ovulation

### RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto de la frecuencia copulatoria durante el celo postovulatorio sobre la mortalidad embrionaria en alpacas. Se seleccionó 44 alpacas hembras con descanso sexual postparto >20 días y con presencia de un folículo preovulatorio  $\geq 7$  mm de diámetro. Los animales fueron servidos con macho de fertilidad comprobada (tiempo de cópula:  $\geq 15$  minutos) y se les aplicó 6 mg de buserelina para asegurar la ovulación. Se formaron 3 grupos experimentales al azar: el primero ( $S_1$ , n = 14) no recibió servicio adicional, el segundo ( $S_2$ , n = 15) recibió un servicio adicional el día 3 postovulación, y el tercero ( $S_3$ , n = 15) tuvo servicios adicionales los días 3 y 4 postovulación. Se confirmó la ovulación mediante observación ecográfica del ovario a través de la desaparición del folículo preovulatorio a las 42 horas postservicio (del primer

<sup>1</sup>Práctica privada

<sup>2</sup>Laboratorio de Reproducción Animal, FMV-UNMSM. E-mail: vleyva@vet.unmsm.edu.pe

<sup>3</sup>Profesor Emérito, UNMSM-FMV

<sup>4</sup>Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA-Marangani, FMV-UNMSM

servicio) y con la presencia de cuerpo lúteo a los 5 días postovulación. Posteriormente se continuó con el registro del tamaño del cuerpo lúteo en los días 13-14 y 19 postservicio, así como el registro de los cambios morfológicos del útero y la presencia del embrión. Estas observaciones fueron complementadas con el examen de receptividad sexual al macho (6, 13-14, 19 y 26 días postservicio). Se logró una tasa de ovulación de 91%. Se observó una tendencia porcentual mayor de supervivencia embrionaria a los 19 días en alpacas que recibieron servicios adicionales en los días 3 ( $S_2 = 80\%$ ) y 3 y 4 ( $S_3 = 85\%$ ) postovulación, que en aquellas que recibieron un solo servicio ( $S_1 = 75\%$ ). Un estudio adicional en 4 alpacas que fueron inducidas a ovular con servicio de macho fértil más administración de buserelina o hCG, fue dirigido a ubicar anatómicamente al oocito fertilizado a los 2, 3 y 4 días postovulación. Se recuperó oocitos fertilizados del oviducto hasta el día 3 postovulación.

**Palabras clave:** alpaca, mortalidad embrionaria, postovulación

## INTRODUCCIÓN

La pérdida embrionaria en alpacas, que mayormente ocurre dentro de las primeros 30 días de gestación, ha sido estimada en un 50% (Fernández-Baca *et al.*, 1970c); sin embargo, se desconocen las causas o factores predisponentes.

Usualmente la alpaca después de la cópula continua presentando celo hasta 4 días después de la ovulación (Leyva y García, 1999a) ó 4 a 5 días postservicio (Fernández-Baca y Novoa, 1968). Este hecho asociado a la serie de montas efectivas diarias (5-6 servicios) que recibe la hembra mientras muestra receptividad sexual en el empadre a campo libre (Fernández-Baca y Novoa, 1968) y a la ocurrencia de la copulación uterina (Franco *et al.*, 1981), explicaría las alteraciones de la estructura endometrial observadas después de la cópula (Apaza *et al.*, 1999) y podrían constituir parte del mecanismo de la ocurrencia de diferentes grados de endometritis reportadas en alpacas vacías (60% por Vilca, 1975; 50% por Ludeña y Leyva, 1977) después del empadre.

Por otro lado, estudios iniciales en transferencia de embriones (Novoa y Sumar, 1968; Sumar y Leyva, comunicación personal) muestran la mayor recuperación de oocitos fertilizados del oviducto en el día 3 postservicio (día 2 postovulación) en alpacas

superovuladas, lo que sugiere la llegada del embrión al útero entre los días 3 y 4 postovulación.

El análisis de todas estas informaciones sugiere que la actividad y la característica sexual en la cópula en estadio postovulatorio avanzado podría representar parte de una posible interferencia en la viabilidad del embrión, lo cual requiere ser confirmado. Por consiguiente, el presente trabajo tiene como objetivo determinar si la frecuencia de copulación en alpacas durante el celo postovulatorio es un factor que contribuye a la mortalidad embrionaria.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de estudio y animales

El presente estudio se llevó a cabo durante los meses de febrero a abril del 2000, en el Fundo San Luis, ubicado en el distrito de Nuñoa, provincia de Melgar, departamento de Puno, ubicado a 4,200 msnm, y a 15° Latitud Sur y 70° Longitud Oeste.

Se utilizaron alpacas en celo y con descanso sexual postparto >20 días, donde se seleccionó a 44 hembras con folículo preovulatorio  $\geq 7$  mm de diámetro. Para este efecto se empleó la ecografía ovárica transrectal. Los animales pertenecían al núcleo reproductor de la Estación Experimen-

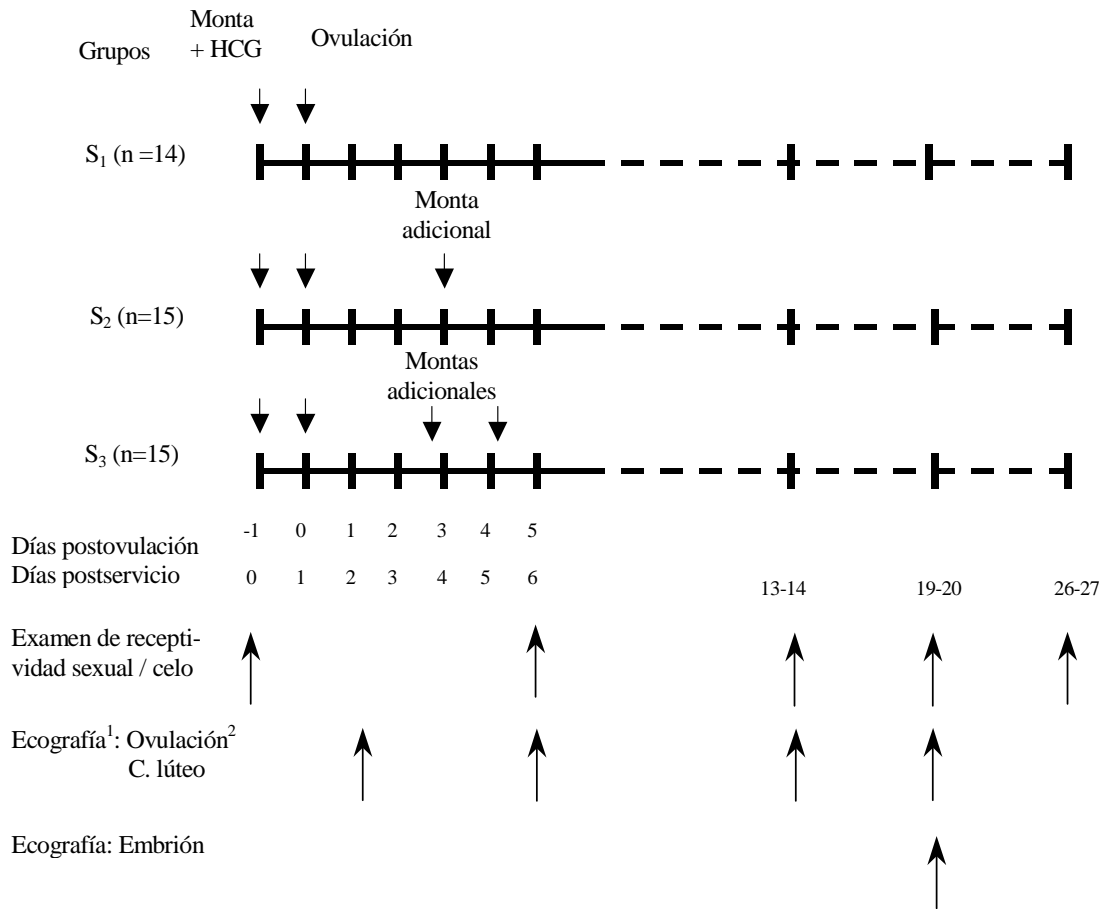


Figura 1. Diseño experimental utilizado para medir el efecto de la cópula durante el celo postovulatorio sobre la mortalidad embrionaria de la alpaca

<sup>1</sup> Se realizó la receptividad sexual frente al macho previo a la observación ecográfica de los ovarios

<sup>2</sup> La ocurrencia de la ovulación se observó a las 42 horas postservicio aproximadamente

tal de Camélidos del Centro de Investigación IVITA-Maranganí (FMV-UNMSM).

### Procedimiento experimental

Las 44 hembras fueron cubiertas (tiempo de cópula  $\geq 15$  minutos) con machos de fertilidad comprobada (15 días antes del empadre se hizo el examen clínico de los órganos genitales y se evaluó el comportamiento sexual). Cada animal recibió 6 g de busserlina ó 500 UI hCG vía i.m. al término de la cópula para asegurar la ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970b; Leyva y García, 1999b).

### Diseño experimental

Las hembras fueron distribuidas al azar después del servicio en 3 grupos experimentales (Fig.1).

El primer grupo (S<sub>1</sub>, n = 14) recibió un solo servicio y fue el grupo control. El segundo grupo (S<sub>2</sub>, n = 15) recibió un segundo servicio el día 3 postovulación (4<sup>to</sup> día postservicio); y el tercer grupo (S<sub>3</sub>, n = 15) recibió un segundo y tercer servicio los días 3 y 4 postovulación, respectivamente (4<sup>to</sup> y 5<sup>to</sup> día postservicio). El tiempo de cópula en cada servicio fue  $\geq 15$  minutos.

### **Detección de ovulación y viabilidad del embrión**

La ovulación fue observada a las 42 horas postservicio, mediante ecografía, a través de la desaparición del folículo pre-ovulatorio y confirmada a los 6 días post-servicio con la presencia del cuerpo lúteo. A los 13 y 19 días postservicio se hizo el seguimiento de la presencia, características y tamaño del cuerpo lúteo, así como del cuerno uterino y embrión, a fin de verificar la posible continuidad de la gestación temprana (Fig. 1). En forma complementaria, se registró la receptividad sexual de la hembra al macho, en los mismos periodos de tiempo que se hicieron las observaciones ecográficas, y a los 26-27 días postservicio.

### **Recuperación de oocitos fertilizados**

Se realizó un estudio complementario dirigido a determinar la localización del oocito fertilizado o embrión en el oviducto o útero, y la presencia de alteraciones macroscópicas en el endometrio en los días 2, 3 y 4 post-ovulación (3, 4 y 5 postservicio, respectivamente), con el propósito de complementar la interpretación de los resultados de la copulación postovulatoria en la supervivencia embrionaria.

Para este estudio se administró 400 UI de PMSG a 4 alpacas adultas de descarte para inducir la maduración de por lo menos 2 folículos preovulatorios (detectados por ecografía). Estos animales fueron servidos con machos 24 horas después (tiempo de cópula  $\geq 15$  minutos), complementado con 10 g de buserelina ó 1000 UI de hCG para asegurar la ovulación. La ocurrencia de la ovulación se determinó por la desaparición del folículo preovulatorio y la presencia posterior del cuerpo lúteo, a través de la imagen ecográfica.

Un animal fue sacrificado en el día 2 postovulación, dos animales en el día 3 y uno en el día 4 (3, 4, y 5 postservicio, respectivamente). El aparato reproductivo se retiró

después del sacrificio y los ovarios fueron expuestos para la determinación de la presencia del cuerpo lúteo y los folículos.

El oviducto fue seccionado a nivel de la unión útero-tubal, y se diseccionó el ligamento de suspensión (mesosalpinx) para eliminar su anatomía tortuosa y así facilitar el lavado (flushing). Para el lavado, se pasó una aguja roma a través de la fimbria y se inyectó entre 5 a 10 ml de una solución de ClNa al 9%. El líquido se recuperó por el extremo opuesto sobre lunas de reloj. Los oocitos fertilizados se observaron con ayuda de un esteroscopio, registrándose el estadio de división de las células blastoméricas.

Los cuernos uterinos se bloquearon con una pinza hemostática a la altura de la unión útero-tubal. Seguidamente se realizó una incisión a nivel del cuerpo del útero para introducir la bombilla de un catéter de dos vías. Por una de las vías se insufló aire y se fijó la bombilla al inicio del cuerno ipsilateral al cuerpo lúteo ovárico para bloquear internamente la vía de salida de este compartimento uterino. Por la otra vía del catéter se inyectó 10 a 20 ml de una solución de ClNa al 9%, cerrándose la vía con una pinza hemostática para permitir realizar suaves masajes en el cuerno, y así asegurar la presencia del oocito en la solución. La solución se recuperó en lunas de reloj al retirar la pinza hemostática. La presencia del oocito o blastocisto se observó con un esteroscopio.

### **Análisis estadísticos**

La tasa de supervivencia embrionaria y gestación entre los grupos experimentales fue evaluada con la prueba de chi cuadrado. La diferencia entre el tamaño del cuerpo lúteo de gestación y de no gestación (mortalidad embrionaria) fue evaluada con la prueba de análisis de varianza (ANOVA). A fin de establecer la diferencia en la receptividad sexual (aceptación y rechazo) en función a la presencia del cuerpo lúteo se utilizó la prueba de chi cuadrado.

## RESULTADOS

Se logró inducir la ovulación en 91% de las alpacas con formación de cuerpo lúteo y posible fertilización y gestación (Cuadro 1). No obstante la ausencia de diferencia significativa entre tratamientos ( $p>0.05$ ), hubo una tendencia porcentual mayor de supervivencia embrionaria y de concepción en alpacas que recibieron servicios adicionales en los días 3 y 4 postovulación.

Resultados sobre el comportamiento sexual de hembras gestantes con cuerpo lúteo en diferentes estadios de desarrollo en la gestación temprana se muestra en el Cuadro 2. La asociación entre la presencia del cuerpo lúteo y la no receptividad sexual (rechazo del macho) fue más marcada después del día 6 postovulación ( $p<0.05$ ).

En el Cuadro 3 se observa que el cuerpo lúteo de alpacas que exhibieron mortalidad embrionaria fue de menor tamaño a partir del día 13 postservicio ( $p<0.01$ ) y se encuentran en proceso regresivo que el cuerpo lúteo de hembras gestantes. En aquellas que no hubo mortalidad embrionaria se observó un incremento hasta alcanzar el tamaño máximo de un cuerpo lúteo de preñez.

En el Cuadro 4 se muestra los resultados del estudio complementario de la ubicación del oocito fertilizado en relación a la cópula en los días 2, 3 y 4 postovulación. Se recuperaron del oviducto oocitos fertilizados hasta el día 3 postovulación. No se llegó a recuperar del oviducto ni del útero en el día 4 postovulación. El número de oocitos recuperados guardó relación con el número de cuerpos lúteos presentes. Zonas hiperémicas y petequias fueron las características más relevantes observadas al examen macroscópico de la mucosa endometrial del útero después del servicio.

## DISCUSIÓN

En las hembras servidas que ovularon, con formación de cuerpo lúteo como expresión de la viabilidad de la fertilización y gestación temprana, no hubo disminución en la tasa de supervivencia embrionaria en aquellas que recibieron servicios adicionales con cópula efectiva después de la ovulación. Por el contrario, hubo tendencia a un incremento, sobretodo en el grupo de alpacas que recibieron mayor número de servicios adicionales entre los días 3 y 4 postovulación.

Cuadro 1. Número de alpacas que ovularon y porcentaje de supervivencia embrionaria en alpacas que no recibieron ( $S_1$ ) o que recibieron servicios adicionales en el día 3 ( $S_2$ ) y 3 y 4 ( $S_3$ ) postovulación

Tratamientos	Alpacas		Supervivencia embrionaria (%)		
	Total (n)	Ovuladas (n)	Día 6 <sup>1</sup>	Día 13-14 <sup>1</sup>	Día 19-20 <sup>2</sup>
$S_1$ - Sin servicios	14	12	100.0 <sup>a</sup>	92.0 <sup>a</sup>	75.0 <sup>a</sup>
$S_2$ - Servicio día 3	15	15	100.0 <sup>a</sup>	87.0 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>
$S_3$ - Servicio día 3 y 4	15	13	100.0 <sup>a</sup>	92.0 <sup>a</sup>	85.0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Con cuerpo lúteo

<sup>2</sup> Con presencia de embrión

<sup>a</sup> Valores con letras desiguales son significativamente diferentes ( $p<0.05$ )

Cuadro 2. Receptividad sexual (aceptación o rechazo) en animales gestantes (supervivencia embrionaria) a diferentes periodos de desarrollo del cuerpo lúteo

Presencia de cuerpo lúteo post servicio	Animales (n)	Acepta (%)	Rechaza (%)
6 días	40	30 <sup>a</sup>	70 <sup>ab</sup>
13-14 días	36	17 <sup>ac</sup>	83 <sup>bd</sup>
19-20 días	32	6 <sup>c</sup>	94 <sup>d</sup>

a,b,c Valores que contengan por lo menos una misma letra en la comparación dentro de columnas y filas no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Cuadro 3. Composición del tamaño del cuerpo lúteo (mm; promedio  $\pm$  d.e.) entre animales donde hubo supervivencia y mortalidad embrionaria

Presencia de cuerpo lúteo post servicio	Supervivencia embrionaria	Mortalidad embrionaria
6 días	11.3 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	10.6 $\pm$ 1.2 <sup>ab</sup>
13-14 días	13.0 $\pm$ 1.5 <sup>ac</sup>	9.3 $\pm$ 1.3 <sup>bd</sup>
19-20 días	13.2 $\pm$ 1.6 <sup>c</sup>	8.4 $\pm$ 1.4 <sup>d</sup>

a,b,c Valores que contengan por lo menos una misma letra en la comparación dentro de columnas y filas no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ )

Cuadro 4. Estado de desarrollo de oocitos fertilizados y alteración de la mucosa endometrial a diferentes estadios después del servicio

Animal	Días post-servicio	Nº de CL <sup>1</sup>	Nº de huevos o embrión <sup>2</sup>	Estadio	Alteración de la mucosa endometrial
A	3	1	1	Mórula (8-16 blastómetros)	Hiperemia, petequias
B	4	2	2	Mórula (16-32 blastómetros)	Hiperemia, petequias
C	4	1	1	Mórula (16 blastómetros)	Hiperemia, petequias
D	5	1	*	- -	Hiperemia, petequias

<sup>1</sup> Cuerpo lúteo

<sup>2</sup> Recuperados en oviducto

\* No se recuperó

La cópula estimula en alpacas en celo la producción del pico preovulatorio de LH para inducir la ovulación, pero la alpaca continúa presentando celo hasta 4 días después de la ovulación (Leyva y García, 1999a), y a nivel de empadre a campo se ha observado que las hembras reciben más de una monta efectiva hasta los 5 días después del primer servicio (Fernández-Baca y Novoa, 1968). Este comportamiento es debido a que los niveles de progesterona secretada por el cuerpo lúteo en desarrollo son todavía insuficientes para inhibir el celo (Leyva y García, 1999a).

La LH es también necesaria para el crecimiento de los folículos (efecto estrogénico) en sinergismo con la FSH (Webb y England, citado por Peters, 1985) y para el establecimiento y mantenimiento del cuerpo lúteo (efecto luteotrópico) (Farín *et al.*, 1987); por consiguiente, se esperaría que la cópula postovulatoria estimule la secreción de LH, sin llegar al establecimiento del pico preovulatorio, pero suficiente para ejercer el efecto estrogénico y/o luteotrópico. La ocurrencia de cualquiera de estos efectos dependería del grado de desarrollo del cuerpo lúteo después de la ovulación. El efecto estrogénico explicaría la presencia de folículos >6 mm detectados entre los días 2 y 4 post-ovulación (Leyva y García, 2000), mientras que el efecto luteotrópico explicaría la secreción de progesterona con niveles  $\geq 1$  ng/ml en plasma sanguíneo (niveles inhibitorios) por el cuerpo lúteo (Aba *et al.*, 1995) después del día 3 en la mayoría de alpacas, y el establecimiento y desarrollo de un cuerpo lúteo completamente funcional (Leyva y García, 1999a) necesario para la supervivencia embrionaria en alpacas.

La ausencia de diferencias estadísticas en el incremento de la tasa de supervivencia embrionaria conforme se incrementa la frecuencia de cópula (entre los días 3 y 4 postovulación) puede ser el resultado del reducido número de animales utilizados en los grupos experimentales y de la necesidad de iniciar el estudio con el 100% de hembras

ovuladas y con fertilización viable, a través del uso de la técnica “empadre hormonal” (servicio con macho fértil + 500 UI hCG). Es probable que una mayor diferencia en mortalidad embrionaria entre hembras que recibieron un solo servicio ( $S_1 = 25\%$ ) y aquellas que recibieron mayor número de servicios ( $S_3 = 15\%$ ) con la técnica del “empadre hormonal” se pueda obtener con un mayor número de animales.

La cópula en la alpaca es intracornual (Franco *et al.*, 1981) y su efecto dinámico y prolongado resulta en alteraciones de la mucosa endometrial detectados dentro de las 4 horas después del servicio (Apaza *et al.*, 1999; Velásquez *et al.*, 1999), observándose con frecuencia secreciones vulvares sanguinolentas inmediatamente después del servicio (Leyva V., Comunicación Personal). En el presente estudio se observó áreas eritematosas, petequias y una ligera inflamación de la mucosa del útero, probablemente debido a que la observación se realizó en alpacas sacrificadas a los 3, 4 y 5 días después del servicio. Por este hecho, se esperaba en el presente estudio un efecto negativo marcado de la cópula en la supervivencia embrionaria, sobretodo en estadíos avanzados (días 3 y 4 postovulación);

Los oocitos fertilizados fueron recuperados del oviducto hasta el día 3 post-ovulación (4 postservicio). No hubo recuperación en el oviducto ni en el útero, probablemente debido a fallas técnicas. Se esperaría que desde el día 4 el oocito fertilizado se encuentre en su fase de transporte de la unión útero-tubal hacia el útero como ocurre en la mayoría de los animales de granja (Hafez, 1989).

El análisis del comportamiento sexual de la hembra frente al macho, después del servicio para el monitoreo de la supervivencia embrionaria en la gestación temprana, muestra la necesidad de una interpretación cuidadosa, sobretodo alrededor del día 6 post-servicio (día 5 postovulación). Es aquí donde el 30% de las hembras supuestamente

gestantes con presencia de cuerpo lúteo exhibieron receptividad sexual en lugar de rechazo al macho. Se espera que alrededor del día 5 post-ovulación en hembras gestantes los niveles de progesterona sean mayores a 1 ng/ml (Aba *et al.*, 1995), niveles suficientes para ejercer un efecto inhibitorio del celo (Leyva y García, 1999a). Es probable que la respuesta de receptividad sexual de las alpacas con cuerpo lúteo manifiesto sea el resultado de un acondicionamiento como consecuencia del manejo reproductivo establecido en el Centro Experimental donde se realizó el presente estudio (Leyva, V., Comunicación Personal).

El tamaño similar del cuerpo lúteo a los 6 días postservicio, entre alpacas con supervivencia embrionaria y con mortalidad embrionaria, es explicable porque en este periodo la glándula se encuentra en su estado de desarrollo y la regresión en ausencia de fertilización ocurre a los 9 días después de la ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Leyva y García, 1999a). Similar observación fue reportada por Leyva y García (2000).

## CONCLUSIONES

Las copulaciones que recibieron las alpacas en los días 3 y 4 postovulación no afectaron la supervivencia embrionaria.

## LITERATURA CITADA

1. **Aba, M.A.; M. Forsberg; H. Kindhal; J. Sumar; L.E. Edqvist. 1995.** Endocrine changes after mating pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36: 489-498.
2. **Apaza, M.; J.L. Málaga; P.W Bravo. 1999.** El endometrio uterino de la alpaca al empadre y en el periodo post-parto. *Res. II Cong. Mun. sobre Camélidos.* Cuzco, Perú. p 85.
3. **Farin, C.E., T.M. Nett; G.D. Niswender. 1987.** Role of LH in the cellular development of corpora lutea in hypophysectomized ewes. *Biol. Reprod.* 36 (Suppl 1): 169.
4. **Fernández-Baca, S.; C. Novoa. 1968.** Conducta sexual de la alpaca en empadre a campo. *Mem. Asoc. Latinoamer. Prod. Anim.* 3: 7-20.
5. **Fernández-Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa. 1970a.** Corpus luteum function in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 252-261.
6. **Fernández-Baca, S.; D.H.L. Madden; C. Novoa. 1970b.** Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *J. Reprod. Fert.* 22: 261-267.
7. **Fernández-Baca, S.; C. Novoa; J. Sumar. 1970c.** Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 243-251.
8. **Franco, E.; J. Sumar; M. Varela. 1981.** Eyaculación de la alpaca. *Res. IV Conv. Int. sobre Camelid. Sudamer.* Punta Arenas, Chile. p 4.
9. **Hafez, E.S.E. 1989.** Transporte y sobrevivencia de los gametos. En: *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales.* 5<sup>ta</sup> ed. p 182-204. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México.
10. **Leyva, V.; W. García. 1999a.** Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. *Res. II Cong. Mun. sobre Camélidos.* Cuzco, Perú. p 87.
11. **Leyva, V.; W. García. 1999b.** Efecto de la GnRH sobre la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. *Res. II Cong. Mun. sobre Camélidos.* Cuzco, Perú. p 90.
12. **Leyva, V.; W. García. 2000.** Efecto del estradiol (E<sub>2</sub>) en la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. *Res. XV Cong. Nac. de Ciencias Veterinarias.* Cuzco, Perú. p 22-23.
13. **Ludeña, H.; V. Leyva. 1977.** Estudio de tratamientos en alpacas afectadas con metritis. *Compendiado en Resúmenes de Proyectos de Investigación (1980-1981), UNMSM.* Tomo III: 242.
14. **Novoa, C.; J. Sumar. 1968.** Colección de huevos *in vivo* y ensayos de transferencia en alpacas. *Bol. Ext. IVITA (Perú)* 3: 31-34.



- 15. Peters, A.R. 1985.** Hormonal control of the bovine oestrous cycle. Br. Vet. J. 141: 564-574.
- 16. Velásquez, F.; J.L. Málaga; P.W. Bravo. 1999.** Citología exfoliativa del útero de la alpaca. Res. II Cong. Mun. sobre Camélidos. Cuzco, Perú. p 84.
- 17. Vilca, M. 1975.** Alteraciones endometriales en alpacas (*Lama pacos*) en el primer mes post-servicio y su relación con la funcionalidad del cuerpo lúteo. Tesis Bachillerato. Fac. Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 52 p.